(19) OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(11) Número de publicación: **2 629 165**

(51) Int. CI.:

C07D 473/34 (2006.01)
A61K 45/06 (2006.01)
A61K 31/52 (2006.01)
A61P 31/12 (2006.01)

(12) TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA T3

(86) Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **14.02.2011 PCT/US2011/024774**

(87) Fecha y número de publicación internacional: **18.08.2011 WO11100698**

(96) Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **14.02.2011 E 11742971 (2)**

(97) Fecha y número de publicación de la concesión europea: **05.04.2017 EP 2534150**

(54) Título: **Métodos de tratamiento de una infección vírica**

(30) Prioridad:

12.02.2010 US 304126 P

(45) Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
07.08.2017

(73) Titular/es:

CHIMERIX, INC. (100.0%)
2505 Meridian Parkway, Suite 340
Durham, NC 27713, US

(72) Inventor/es:

ALMOND, MERRICK;
LAMPERT, BERNHARD;
LANIER, ERNEST, RANDALL y
WARE, ROY

(74) Agente/Representante:

SUGRAÑES MOLINÉ, Pedro

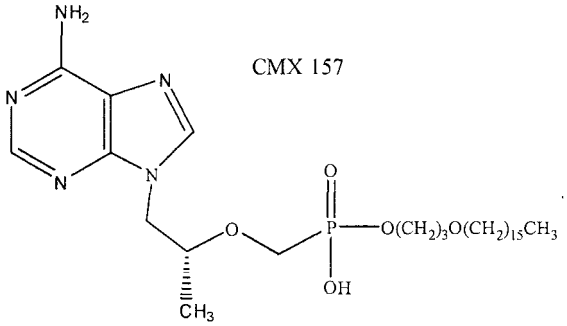
Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Métodos de tratamiento de una infección vírica

Antecedentes de la invención

El hidrógeno ((R)-1-(6-amino-9H-purin-9-il)propan-2-iloxi)metilfosfonato de 3-(hexadeciloxi)propilo; (denominado CMX157, hexadeciloxipropil tenofovir o HDP-TFV), un conjugado lipídico de tenofovir, se diseñó para imitar la lisofosfatidilcolina para aprovechar las vías de absorción de lípidos naturales y para conseguir altas concentraciones intracelulares del antivírico activo, con el objetivo de aumentar la eficacia del tenofovir (TFV) contra el VIH de tipo silvestre y mutante (Véase Hostetler et al. *Enhanced oral absorption and antiviral activity of 1-O-octadecyl-sn-glycero-3-phospho-acyclovir and related compounds in hepatitis B virus infection, in vitro. Biochem Pharmacol* 53:1815-1822 (1997); Painter et al., *Antimicrob. Agents Chemother.* 51:3505-9 (2007) y Painter, et al., *Trends Biotechnol.* 22:423-7 (2004)). Además, el CMX157 también puede usarse para tratar el VIH y/o el VHB e inhibir el desarrollo de resistencia a otros compuestos antivíricos. (Véase las Publicaciones PCT N.º WO 2009/094191 y WO 2009/094190). La estructura del CMX157 se muestra a continuación:



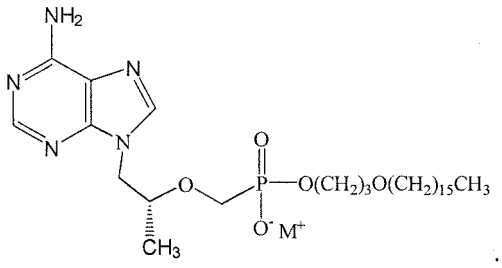
CMX 157

Los datos recientes han indicado que el gammaretrovirus virus xenotrópico relacionado con el virus de la leucemia murina (XMRV) y otros virus relacionados con el virus de la leucemia murina (MLV) se asocian al cáncer de próstata y/o al síndrome de fatiga crónica. (Véase, por ejemplo, Schlaberg R et al., *PNAS*, 106 (38): 6351-6 (2009) y Lombardi VC, et al., *Detection of an infectious retrovirus, XMRV, in blood cells of patients with chronic fatigue syndrome, Science*, 326 (5952): 585-9, (octubre de 2009) y Lo et al., *PNAS early edition*, publicado en línea antes de la impresión el 23 de agosto de 2010, doi: 10.1073/pnas.1006901107). Hasta el momento, existe un tratamiento médico limitado para el cáncer de próstata y no existe ningún tratamiento eficaz para el síndrome de fatiga crónica. Por tanto, existe una necesidad de nuevos fármacos que pueden usarse para tratar enfermedades víricas.

El documento CN 1 810 816 A desvela sales de compuestos de monoéster de tenofovir.

Sumario de la invención

Un primer aspecto de la invención proporciona los compuestos que tienen la estructura

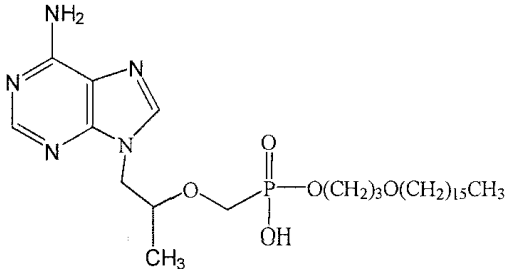


en la que M^+ es K^+.

Otro aspecto de la invención proporciona composiciones farmacéuticas, una composición en una forma de dosificación de comprimido o cápsula, una formulación intravenosa, soluciones o suspensiones que comprenden los compuestos que se describen en el presente documento.

Un aspecto de la divulgación proporciona procesos de preparación de los compuestos que se describen en el presente documento. Los procesos comprenden disolver compuesto I en un disolvente,

Compuesto I



añadir una base a la mezcla del disolvente y el compuesto I y retirar el disolvente.

Otro aspecto de la divulgación proporciona métodos de tratamiento o prevención de una enfermedad vírica. Los métodos comprenden administrar a un sujeto una cantidad eficaz de los compuestos que se describen en el presente documento (por ejemplo, CMX157 o un compuesto de fórmula I). En una realización, el virus es un retrovirus, por ejemplo, virus xenotrópico relacionado con el virus de la leucemia murina (XMRV).

Otro aspecto de la divulgación proporciona métodos de tratamiento o prevención del síndrome de fatiga crónica. Otro aspecto de la invención proporciona métodos de tratamiento o prevención del cáncer de próstata.

Un aspecto adicional de la divulgación proporciona métodos de tratamiento de un sujeto infectado con al menos un retrovirus y al sujeto no se le ha administrado ningún agente activo antivírico para el retrovirus.

Los métodos comprenden la administración de compuestos que se describen en el presente documento al sujeto infectado en una cantidad eficaz para tratar la infección vírica.

Otro aspecto de la divulgación proporciona métodos de tratamiento de un sujeto infectado con al menos un retrovirus y el sujeto ha desarrollado resistencia o una respuesta tóxica a al menos otro compuesto antivírico en respuesta a la administración previa de dicho al menos otro compuesto antivírico a dicho sujeto para la infección por retrovirus. Los métodos comprenden administrar al sujeto infectado compuestos que se describen en el presente documento en una cantidad eficaz para tratar la infección vírica.

Un aspecto adicional de la divulgación proporciona métodos de inhibición de la transmisión sexual del VIH. Los métodos comprenden la aplicación tópica a la piel o el tejido epitelial de un ser humano de una cantidad terapéuticamente eficaz de una composición que comprende un agente antivírico, el compuesto que se describe en el presente documento. Los métodos comprenden adicionalmente administrar simultáneamente al sujeto uno o más agentes activos adicionales antivíricos con los compuestos que se describen en el presente documento.

Otro aspecto de la divulgación proporciona una composición farmacéutica que comprende un compuesto/sal que se describe en el presente documento y un vehículo farmacéuticamente aceptable. Otro aspecto de la divulgación proporciona una composición farmacéutica que comprende un compuesto/sal que se describe en el presente documento y al menos un agente activo antivírico adicional y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

Descripción detallada de la invención

Los anteriores y otros aspectos de la presente invención se describirán ahora en más detalle con respecto a la descripción y las metodologías que se proporcionan en el presente documento. Se debe apreciar que la invención puede realizarse de diferentes formas y no debe interpretarse como que se limita a las realizaciones que se exponen en el presente documento. Más bien, las presentes realizaciones se proporcionan de manera que la presente divulgación sea minuciosa y completa y transmita completamente el alcance de la invención a los expertos en la materia.

La terminología utilizada en la divulgación de la invención en el presente documento tiene el propósito de describir realizaciones particulares solamente y no se pretende que sea limitante de la invención. Como se usa en la descripción de las realizaciones de la invención y las reivindicaciones adjuntas, se pretende que las formas singulares "un", "una", "el" y "la" incluyan las formas plurales también, a menos que el contexto indique claramente lo contrario. También, como se usa en el presente documento, "y/o" se refiere a y abarca cualquiera y todas las combinaciones posibles de uno o más de los artículos enumerados asociados. Además, el término "aproximadamente", como se usa en el presente documento cuando se refiere a un valor medible tal como una cantidad de un compuesto, dosis, tiempo, temperatura y similares, pretende abarcar variaciones del 20 %, del 10 %, del 5 %, del 1 %, del 0,5 % o incluso del 0,1 % de la cantidad especificada.

Se entenderá adicionalmente que las expresiones "comprende" y/o "que comprende", cuando se usan en la presente memoria descriptiva, especifican la presencia de las características, números enteros, etapas, operaciones, elementos y/o componentes indicados, pero no excluyen la presencia o adición de una o más de otras características, números enteros, etapas, operaciones, elementos, componentes y/o grupos de los mismos. A menos que se defina lo contrario, todos los términos, incluyendo los términos técnicos y científicos utilizados en la descripción, tienen el mismo significado que se entiende comúnmente por un experto habitual en la técnica a la que pertenece la presente invención.

La expresión "consiste esencialmente en" (y variantes gramaticales), como se aplica a las composiciones de la presente invención, significa que la composición puede contener componentes adicionales a condición de que los componentes adicionales no alteren materialmente la composición. La expresión "considerablemente alterado", como se aplica a una composición, se refiere a un aumento o disminución en la eficacia terapéutica de la composición de al menos aproximadamente el 20 % o más en comparación con la eficacia de una composición que consiste en los componentes citados.

A menos que el contexto indique lo contrario, se pretende específicamente que las diversas características de la invención que se describe en el presente documento pueden utilizarse en cualquier combinación.

Además, la presente invención también contempla que en algunas realizaciones de la invención, cualquier característica o combinación de características expuesta en el presente documento puede excluirse u omitirse.

A. Definiciones

Como se usa en el presente documento, "metales alcalinos" son elementos químicos del Grupo 1 de la tabla periódica de los elementos, por ejemplo: litio (Li), sodio (Na) y potasio (K).

Los sujetos que se tratan mediante los métodos de la presente divulgación son, en general, sujetos mamíferos y primates (por ejemplo, ser humano, mono, chimpancé). Los sujetos pueden ser macho o hembra y pueden tener cualquier edad, incluso sujetos prenatales (es decir, en el útero), neonatales, lactantes, infantiles, adolescentes, adultos y geriátricos. Por tanto, en algunos casos, los sujetos pueden ser hembras embarazadas. El tratamiento puede ser para cualquier propósito, incluyendo el tratamiento terapéutico de sujetos infectadas previamente, así como el tratamiento profiláctico de sujetos no infectados (por ejemplo, sujetos identificados como que están en alto riesgo de infección).

Como se usa en el presente documento, se pretende que "virus de la inmunodeficiencia humana" (o "VIH") como se usa en el presente documento incluya todos los subtipos del mismo, incluyendo el VIH subtipos A, B, C, D, E, F, G y O y el VIH-2.

Como se usa en el presente documento, se pretende que "virus de la hepatitis B" (o "VHB") como se usa en el presente documento incluya todos los subtipos (adw, adr, ayw y ayr) y/o genotipos (A, B, C, D, E, F, G y H) del mismo.

Como se usa en el presente documento, o "una cantidad terapéuticamente eficaz" se refiere a una cantidad que proporcionará cierto alivio, mitigación y/o disminución de al menos un síntoma clínico en el sujeto. Los expertos en la materia apreciarán que los efectos terapéuticos no necesitan ser completos o curativos, a condición de que se proporcione algún beneficio al sujeto.

Como se usa en el presente documento, "especificidad" o "específicamente contra" se refiere a un compuesto que puede inhibir selectivamente la actividad metabólica y/o la replicación del ADN de un determinado tipo de células infectadas por virus. La especificidad puede someterse a ensayo mediante el uso de cualquiera de los métodos conocidos para un experto en la materia, por ejemplo, ensayos de CI_{90} y/o CI_{50}. En algunas realizaciones, los compuestos que se describen en el presente documento pueden tener una CI_{90} y/o una CI_{50} contra las células infectadas por virus que sean al menos aproximadamente tres veces inferiores a la CI_{90} y/o la CI_{50} contra las células normales (no infectadas). En algunas realizaciones, los compuestos que se describen en el presente documento pueden tener una CI_{90} y/o una CI_{50} contra las células infectadas por virus que sean aproximadamente de tres veces a diez veces inferiores a la CI_{90} y/o la CI_{50} contra las células normales (no infectadas). En algunas realizaciones, los compuestos que se describen en el presente documento pueden tener una CI_{90} y/o una CI_{50} contra las células infectadas por virus que sean al menos diez veces inferiores a la CI_{90} y/o la CI_{50} contra las células normales (no infectadas). En algunas realizaciones, los compuestos que se describen en el presente documento pueden tener una citotoxicidad específica contra células infectadas y/o transformadas por virus. La citotoxicidad puede medirse por cualquiera de los métodos conocidos para un experto en la materia.

A menos que se indique otra cosa, se pretende que las estructuras representadas en el presente documento incluyan todas las formas isoméricas (por ejemplo, enantioméricas, diastereoméricas y geométricas (o conformacionales)) de la estructura; por ejemplo, las configuraciones R y S para cada centro asimétrico, isómeros de doble enlace (Z) y (E) e isómeros conformacionales (Z) y (E). Por tanto, los isómeros estereoquímicos individuales

así como las mezclas enantioméricas, diastereoméricas y geométricas (o conformacionales) de los presentes compuestos están dentro del alcance de la invención. A menos que se indique lo contrario, todas las formas tautoméricas de los compuestos de la invención están dentro del alcance de la invención.

Como se usa en el presente documento, la expresión "retrovirus gamma" se refiere a un género de la familia Retroviridae. Los ejemplos incluyen, por ejemplo, el virus de la leucemia murina, el virus de la leucemia felina, el virus del sarcoma felino y el virus de la reticuloendoteliosis aviar. Muchos retrovirus gamma comparten un elemento estructural de ARN conservado, conocido como una señal de encapsidación del núcleo.

Como se usan en el presente documento, las expresiones "tratamiento", "tratar" y "que trata" se refieren a invertir, aliviar, inhibir el progreso de una enfermedad o trastorno como se describe en el presente documento, o retrasar, eliminar o reducir la incidencia o aparición de un trastorno o enfermedad como se describe en el presente documento, en comparación con lo que ocurriría en ausencia de la medida adoptada. En algunas realizaciones, el tratamiento puede administrarse después de que se hayan desarrollado uno o más síntomas. En otras realizaciones, el tratamiento puede administrarse en ausencia de síntomas. Por ejemplo, el tratamiento puede administrarse a un individuo susceptible antes de la aparición de los síntomas (por ejemplo, a la luz de antecedentes de síntomas y/o a la luz de factores de susceptibilidad genéticos o de otro tipo). El tratamiento también puede continuarse después de que desaparezcan los síntomas, por ejemplo para prevenir o retrasar su repetición.

Como se usan en el presente documento, los términos "prevenir", "profiláctico" o "profilaxis" significan provocar que los síntomas clínicos de una enfermedad o afección no se desarrollen, es decir, inhibir el comienzo de una enfermedad o afección en un sujeto que puede estar expuesto o predispuesto a la enfermedad o afección, pero que aún no experimenta o manifiesta los síntomas de la enfermedad o afección. Administración preventiva significa que un compuesto de la invención se administra a un sujeto antes de la observación de los síntomas y/o de una presunta exposición a un agente causante de la enfermedad (por ejemplo, un patógeno o carcinógeno). En general, la administración preventiva puede reducir (a) la probabilidad de que un sujeto que recibe el tratamiento desarrolle la afección y/o (b) la duración y/o gravedad de los síntomas en el caso de que el sujeto desarrolle la afección.

El compuesto activo de la presente invención puede administrarse opcionalmente en combinación (o junto) con otros compuestos y/o agentes activos útiles en el tratamiento de infecciones víricas como se describen en el presente documento. La administración de dos o más compuestos "en combinación" o "junto con" significa que los dos compuestos se administran suficientemente cerca en el tiempo para tener un efecto combinado, por ejemplo un efecto aditivo y/o sinérgico. Los dos compuestos pueden administrarse simultáneamente (concurrentemente) o secuencialmente o pueden ser dos o más acontecimientos que se producen dentro de un corto período de tiempo antes o después el uno del otro. La administración simultánea puede realizarse mediante la mezcla de los compuestos antes de la administración o mediante la administración de los compuestos en el mismo punto en el tiempo pero en diferentes sitios anatómicos o utilizando diferentes vías de administración. En algunas realizaciones, el otro agente antivírico, opcionalmente, puede administrarse simultáneamente.

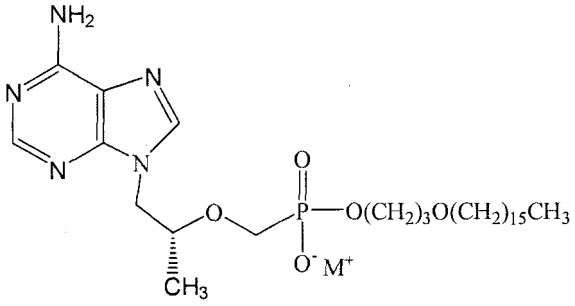
"Parenteral" como se usa en el presente documento se refiere a una inyección subcutánea, intravenosa, intraarterial, intramuscular o intravítrea o a técnicas de infusión.

"Por vía tópica" como se usa en el presente documento abarca la administración por vía rectal y por pulverización para inhalación, así como las vías más comunes de la piel y las membranas mucosas de la boca y la nariz y en pasta de dientes.

B. Compuestos

Los investigadores de la presente invención descubrieron que la forma de ácido libre de CMX157 es relativamente inestable. (Véase el Ejemplo 2) Es sorprendente encontrar que las sales de CMX157 son mucho más estables que CMX157 y poseen propiedades físicas superiores tales como higroscopicidad y propiedades de manipulación, que hacen que el procesamiento y la formulación sean más fáciles.

En particular, un aspecto de la invención proporciona el compuesto que tiene la estructura de



en la que M^+ es K^+. La sal puede estar en diversas formas, todas las cuales están incluidas dentro del alcance de la invención. Estas formas incluyen la forma anhidra o solvatos. En otras realizaciones, la sal puede ser cristalina.

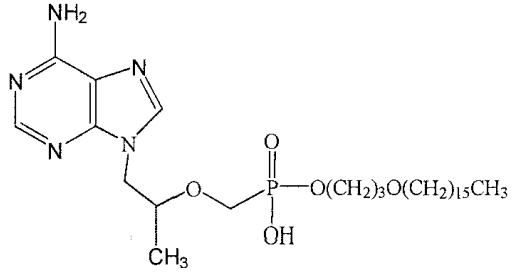
C. Proceso de preparación

En general, los compuestos de la presente divulgación pueden prepararse mediante técnicas convencionales conocidas en la técnica y mediante procesos conocidos análogos a los mismos. Por ejemplo, el CMX157 puede prepararse de acuerdo con procedimientos conocidos o variaciones de los mismos que serán evidentes para los expertos en la materia. Véase, por ejemplo, Painter et al., *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 51, 3505-3509 (2007) y la Publicación de Solicitud de Patente de los EE.UU. N.º 2007/0003516 en Almond et al.

Se exponen a continuación métodos generales para preparar compuestos de la presente divulgación. En la siguiente divulgación, todas las variables son, a menos que se indique lo contrario, como se definen en las fórmulas que se describen en el presente documento. Las siguientes descripciones no limitantes ilustran las metodologías generales que pueden utilizarse para obtener los compuestos que se describen en el presente documento.

En una realización, el compuesto que se describe en el presente documento puede prepararse disolviendo el compuesto 1 en un disolvente apropiado,

Compuesto I



añadiendo una base adecuada a la mezcla del disolvente y el compuesto 1 y retirando el disolvente para proporcionar el compuesto de fórmula I.

El disolvente utilizado en la preparación puede ser cualquier disolvente adecuado conocido por un experto en la materia o una combinación de disolventes que proporcione un rendimiento satisfactorio del producto. En una realización, el disolvente es una mezcla de al menos dos disolventes. Una combinación de ejemplo de disolventes incluye, pero no se limita a, diclorometano y metanol, así como diclorometano y etanol. En una realización, la relación molar del diclorometano y el metanol está en un intervalo de aproximadamente 1:1 a 9:1. En una realización, la relación molar del diclorometano y el metanol está en un intervalo de aproximadamente 7:3 a 9:1. En una realización adicional, la relación molar del diclorometano y el metanol es de aproximadamente 9:1.

La base utilizada en la preparación puede ser cualquier base adecuada conocida por un experto en la materia o una combinación de bases que proporcione un rendimiento satisfactorio del producto. En algunas realizaciones, la base es una base de alcoholato de metal alcalino. Las bases de ejemplo incluyen, pero no se limitan a, metóxido de potasio, metóxido de sodio, terc-butóxido de litio, hidróxido de amonio, hidróxido de sodio, hidróxido de potasio e hidróxido de litio.

El proceso que se describe en el presente documento puede incluir adicionalmente la etapa de recristalización para retirar impurezas, productos secundarios y material de partida sin reaccionar. La etapa de recristalización comprende la etapa de disolver el producto en un disolvente adecuado a una temperatura apropiada, enfriar a una temperatura apropiada durante un período de tiempo suficiente para precipitar el compuesto de fórmula I, filtrar para proporcionar los compuestos de fórmula I. En algunas realizaciones, la temperatura para la etapa de disolución está en un intervalo de aproximadamente 50 ºC a 80 ºC.

D. Agentes/compuestos antivíricos adicionales

Los agentes activos antivíricos adicionales que pueden utilizarse en la realización de la presente divulgación incluyen inhibidores de la proteasa del VIH, inhibidores nucleosídicos de la transcriptasa inversa (este término en el presente documento incluye inhibidores nucleosídicos de la transcriptasa inversa), inhibidores no nucleosídicos de la transcriptasa inversa, inhibidores de la integrasa, inhibidores de la entrada, inhibidores de la fusión, inhibidores de la maduración y combinaciones de los mismos. Se conocen y se describen numerosos ejemplos en, por ejemplo, la Publicación de Solicitud de Patente de los EE.UU. N.º 2006/0234982 de Dahl et al. en la Tabla A en la misma y en la Tabla A como se expone a continuación.

Los ejemplos adicionales incluyen, pero no se limitan a, el inhibidor de la integrasa Isentress o raltegravir (MK-0518: Merck), el inhibidor de CCR5 Maraviroc o selzentry (y K-427 857, Pfizer) y otros de estas clases.

Se proporcionan ejemplos adicionales en la Patente de los EE.UU. N.º 7.094.413 de Buelow et al.; la Patente de los EE.UU. N.º 7.250.421 de Nair et al., la Solicitud de Patente de los EE.UU. N.º 2007/0265227 de Heneine et al. y la Solicitud de Patente de los EE.UU. N.º 2007/0072831 de Cai et al.

El inhibidor no nucleosídico de la transcriptasa inversa ("INNTI") 6-cloro-4-ciclopropiletinil-4-trifluorometil-1,4-dihidro=2H3,1-benzoxazin-2-ona, y sales farmacéuticamente aceptables del mismo, se describen en, por ejemplo, la Patente de los EE.UU. N.º 5.519.021. Los ejemplos de la presente divulgación incluyen efavirenz.

El inhibidor nucleosídico de la transcriptasa inversa ("INTI") 2-hidroximetil-5-(5-fluorocitosina-1-il)-1,3-oxatiolano ("FTC"), y sales farmacéuticamente aceptables del mismo, se describen en, por ejemplo, la Patente de los EE.UU. N.º 6.642.245 de Liotta et al. Los ejemplos de la presente invención incluyen emtricitabina.

Los inhibidores de la integrasa incluyen, pero no se limitan a, los que se describen en la Publicación de Solicitud de Patente de los EE.UU. N.º 2007/0072831, el documento WO 02/30426, el documento WO 02/30930, el documento WO 02/30931, el documento WO 02/055079, el documento WO 02/36734, la Patente de los EE.UU. N.º 6.395.743; la Patente de los EE.UU. N.º 6.245.806; la Patente de los EE.UU. N.º 6.271.402; el documento WO 00/039086; el documento WO 00/075122; el documento WO 99/62513; el documento WO 99/62520; el documento WO 01/00578; Jing, et al., *Biochemistry*, 41, 5397-5403, (2002); Pais, et al., *J. Med. Chem.*, 45, 3184-94 (2002); Goldgur, et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 96, 13040-13043 (1999); Espeseth, et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 97,11244-11249, (2000); el documento WO 2005/016927, el documento WO 2004/096807, el documento WO 2004/035577, el documento WO 2004/035576 y el documento US 2003/0055071.

Tabla A.

5,6 dihidro-5-azacitidina
5-aza 2'desoxicitidina
5-azacitidina
2'-desoxiguanosina 5-il-carbocíclica (BMS200.475)
9-(arabinofuranosil)guanina; 9-(2'-desoxirribofuranosil)guanina
9-(2'-desoxi-2'-fluororribofuranosil)-2,6-diaminopurina
9-(2'-desoxi-2'-fluororribofuranosil)guanina
9-(2'-desoxirribofuranosil)-2,6-diaminopurina
9-(arabinofuranosil)-2,6-diaminopurina
Abacavir, Ziagen®
Aciclovir, ACV; 9-(2-hidroxietoxilmetil)guanina
Adefovir dipivoxilo, Hepsera®
Amdoxivir, DAPD
Amprenavir, Agenerase®
araA; 9-β-D-arabinofuranosiladenina (Vidarabina)
Sulfato de atazanivir (Reyataz®)
AZT; 3'-azido-2',3'-didesoxitimidina, Zidovudina, (Retrovir®)
BHCG; (+-)-(1a,2b,3a)-9-[2,3-bis(hidroximetil)ciclobutil]guanina
BMS200.475; 2'-desoxiguanosina 5-il-carbocíclica
Buciclovir; (R) 9-(3,4-dihidroxibutil)guanina
BvaraU; 1-β-D-arabinofuranosil-E-5-(2-bromovinil)uracilo (Sorivudina)
Calanolida A
Capravirina
CDG; 2'-desoxiguanosina carbocíclica
Cidofovir, HPMPC; (S)-9-(3-hidroxi-2-fosfonilmetoxipropil)citosina
Clevudina, L-FMAU; 2'-Fluoro-5-metil-β-L-arabino-furanosiluracilo
Combivir® (lamivudina/zidovudina)
Cytallene; [1-(4'-hidroxi-1',2'-butadienil)citosina]
DAPD; (-)-β-D-2,6-diaminopurina dioxolano
ddA; 2',3'-didesoxiadenosina
ddAPR; 2,6-diaminopurina-2',3'-didesoxirribósido
ddC; 2',3'-didesoxicitidina (Zalcitabina)

ddI; 2',3'-didesoxiinosina, didanosina, (Videx®, Videx® EC)
Delavirdina, Rescriptor®
Didanosina, ddI, Videx®; 2',3'-didesoxiinosina
DXG; guanosina dioxolano
E-5-(2-bromovinil)-2'-desoxiuridina
Efavirenz, Sustiva®
Enfuvirtida, Fuzeon®
F-ara-A; fluoroarabinosiladenosina (Fludarabina)
FDOC; (-)-β-D-5-fluoro-1-[2-(hidroximetil)-1,3-dioxolano]citosina
FEAU; 2'-desoxi-2'-fluoro-1-β-D-arabinofuranosil-5-etiluracilo
FIAC; 1-(2-desoxi-2-fluoro-β-D-ababinofuranosil)-5-yodocitosina
FIAU; 1-(2-desoxi-2-fluoro-β-D-ababinofuranosil(-5-yodouridina
FLG; 2',3'-didesoxi-3'-fluoroguanosina
FLT; 3'-desoxi-3'-fluorotimidina
Fludarabina; F-ara-A; fluoroarabinosiladenosina;
FMAU; 2'-Fluoro-5-metil-β-L-arabino-furanosiluracilo
FMdC
Foscarnet; ácido fosfonofórmico, PFA
FPMPA; 9-(3-fluoro-2-fosfonilmetoxipropil)adenina
Ganciclovir, GCV; 9-(1,3-dihidroxi-2-propoximetil)guanina
GS-7340; 9-[R-2-[[(S)-[[(S)-1-(isopropoxicarbonil)etil]amino]-fenoxifosfinil metoxi]propil]adenina
HPMPA; (S)-9-(3-hidroxi-2-fosfonilmetoxipropil)adenina
HPMPC; (S)-9-(3-hidroxi-2-fosfonilmetoxipropil)citosina (Cidofovir)
Hidroxiurea, Droxia®
Indinavir, Crixivan®
Kaletra® (lopinavir/ritonavir)
Lamivudina, 3TC, Epivir™; (2R,5S,cis)-4-amino-1-(2-hidroximetil-1,3-oxatiolan-5-il)-(1H)-pirimidin-2-ona
L-d4C; L-3'-desoxi-2',3'-dideshidrocitidina
L-ddC; L-2',3'-didesoxicitidina
L-Fd4C; L-3'-desoxi-2',3'-dideshidro -5-fluorocitidina
L-FddC; L-2',3'-didesoxi-5-fluorocitidina
Lopinavir
Nelfinavir, Viracept®
Nevirapina, Viramune®
Oxetanocina A; 9-(2-desoxi-2-hidroximetil-β-D-eritro-oxetanosil)adenina
Oxetanocina G; 9-(2-desoxi-2-hidroximetil-β-D-eritro-oxetanosil)guanina
Penciclovir
PMEDAP; 9-(2-fosfonilmetoxietil)-2,6-diaminopurina
PMPA, tenofovir; (R)-9-(2-fosfonilmetoxipropil)adenina
PPA; ácido fosfonoacético
Ribavirina; 1-β-D-ribofuranosil-1,2,4-triazol-3-carboxamida
Ritonavir, Norvir®
Saquinavir, Invirase®, Fortovase®
Sorivudina, BvaraU; 1-β-D-arabinofuranosil-E-5-(2-bromovinil)uracilo
Estavudina, d4T, Zerit®; 2',3'-dideshidro-3'-desoxitimidina
Trifluorotimidina, TFT;
Trizivir® (sulfato de abacavir/lamivudina/zidovudina)
Vidarabina, araA; 9-β-D-arabinofuranosiladenina
Viread®, disoproxil fumarato de tenofovir (DF), Bis POC PMPA, TDF;
Ácido 2,4,6,8-tetraoxa-5-fosfanonanedioico, 5-[[(1R)-2-(6-amino-9H-purin-9-il)-1-metiletoxi]metil]-, bis(1-metiletil) éster, 5-óxido, (2E)-2-butenodioato (1:1)
Zalcitabina, Hivid®, ddC; 2',3'0-didesoxicitidina
Zidovudina, AZT, Retrovir®; 3'-azido-2',3'-didesoxitimidina

Zonavir; 5-propinil-1-arabinosiluracilo

En otra realización, las composiciones de la presente divulgación pueden incluir los compuestos activos que se describen en el presente documento en combinación con uno o más (por ejemplo, 1, 2, 3) agentes activos adicionales que se han descrito anteriormente, de forma análoga a la conocida en la técnica. Por ejemplo, se describen combinaciones de efavirenz (un INTI), emtricitabina (un INNTI) y DF de tenofovir (un INTI) en, por ejemplo, Dahl et al., la Publicación de Solicitud de Patente de los EE.UU. N.º 2007/0099902 de Dahl et al. Los ejemplos específicos de dichas combinaciones incluyen, pero no se limitan a: compuestos que se describen en el presente documento en combinación con:

(a) FTC/Efavirenz;
(b) 3TC/Efavirenz;
(c) AZT/3TC;
(d) FTC;
(e) 3TC;
(f) FTC/Isentress;
(g) 3TC/Isentress;
(h) PPL-100;
(i) FTC/TMC278;
(k) 3TC/TMC278;
(l) FTC/TMC125; o
(m) 3TC/TMC125.

E. Formulaciones farmacéuticas y administración

En una realización, la presente invención es una composición farmacéutica que comprende el compuesto de la presente invención. En otra realización, la composición farmacéutica comprende adicionalmente un vehículo farmacéuticamente aceptable. La expresión "vehículo farmacéuticamente aceptable" como se usa en el presente documento se refiere a cualquier sustancia, no en sí un agente terapéutico, utilizada como vehículo para la administración de un agente terapéutico a un sujeto. Los ejemplos de vehículos farmacéuticamente aceptables y métodos de fabricación para diversas composiciones incluyen, pero no se limitan a, los que se describen en *Remington Pharmaceutical Sciences*, 18ª Ed., Mack Publishing Co. (1990) (Véase también la Solicitud de Patente de los EE.UU. 2007/0072831).

El compuesto de la invención puede formularse con vehículos, diluyentes y excipientes convencionales, que se seleccionarán de acuerdo con la práctica habitual. Los comprimidos contendrán excipientes, sustancias de deslizamiento, cargas, aglutinantes, diluyentes y similares. Las formulaciones acuosas se preparan en forma estéril y cuando tienen por objeto la administración distinta de la oral generalmente serán isotónicas. Las formulaciones contienen opcionalmente excipientes tales como los que se exponen en el "*Handbook of Pharmaceutical Excipients*" (1986) e incluyen ácido ascórbico y otros antioxidantes, agentes quelantes tales como EDTA, hidratos de carbono tales como dextrina, hidroxialquilcelulosa, hidroxialquilmetilcelulosa, ácido esteárico y similares.

El compuesto de la invención (en lo sucesivo en el presente documento denominado principio activo) puede administrarse por cualquier vía apropiada para la afección que se va a tratar, vías adecuadas incluyendo la oral, rectal, nasal, tópica (incluyendo la ocular, bucal y sublingual), vaginal y parenteral (incluyendo subcutánea, intramuscular, intravenosa, intradérmica, intratecal y epidural). La vía de administración preferida puede variar con, por ejemplo, la afección del receptor.

Aunque es posible que el principio activo se administre solo, es preferible presentarlo como formulaciones farmacéuticas. Las formulaciones de la presente invención, tanto para su uso veterinario como para su uso humano, comprenden al menos un principio activo, como se ha definido anteriormente, junto con uno o más vehículos farmacéuticamente aceptables (excipientes, diluyentes, etc.) de los mismos y opcionalmente otros ingredientes terapéuticos. El vehículo o vehículos deben ser "aceptables" en el sentido de ser compatibles con los otros ingredientes de la formulación y no perjudiciales para el receptor de los mismos.

Las formulaciones incluyen las adecuadas para la administración oral, rectal, nasal, tópica (incluyendo bucal y sublingual), vaginal o parenteral (incluyendo subcutánea, intramuscular, intravenosa, intradérmica, intratecal y epidural). Las formulaciones pueden presentarse oportunamente en una forma de dosificación unitaria y pueden prepararse por cualquiera de los métodos bien conocidos en la técnica de la farmacia. Dichos métodos incluyen la etapa de poner en asociación el principio activo con el vehículo que constituye uno o más ingredientes adyuvantes. En general, las formulaciones se preparan poniendo en asociación uniforme e íntimamente el principio activo con vehículos líquidos o vehículos sólidos finamente divididos o ambos, y después, si es necesario, dando forma al producto.

Las formulaciones de la presente invención adecuadas para la administración oral pueden presentarse como unidades individuales tales como cápsulas, obleas o comprimidos, conteniendo cada uno una cantidad predeterminada del principio activo; como un polvo o gránulos; como una solución o una suspensión en un líquido acuoso o un líquido no acuoso; o como una emulsión líquida de aceite-en-agua o una emulsión líquida de agua-en-aceite. El principio activo también puede presentarse como un bolo, electuario o pasta.

Un comprimido puede fabricarse por compresión o moldeo, opcionalmente con uno o más ingredientes adyuvantes. Los comprimidos por compresión pueden prepararse comprimiendo en una máquina adecuada el principio activo en una forma fluida tal como un polvo o gránulos, opcionalmente mezclado con un aglutinante, lubricante, diluyente inerte, conservante, tensioactivo o agente dispersante. Los comprimidos moldeados pueden fabricarse moldeando en una máquina adecuada una mezcla del compuesto en polvo humedecido con un diluyente líquido inerte. Los comprimidos pueden estar opcionalmente recubiertos o ranurados y pueden formularse de manera que proporcionen una liberación lenta o controlada del principio activo en el mismo.

Para las infecciones del ojo u otros tejidos externos, por ejemplo la boca y la piel, las formulaciones, en algunas realizaciones, se aplican como una pomada o crema tópica que contiene el principio activo en una cantidad de, por ejemplo, del 0,005 al 20 % p/p (incluyendo el principio activo en un intervalo entre el 0,05 % y el 20 % en incrementos del 0,05 % p/p tal como el 0,6 % p/p, el 0,65 % p/p, el 0,7 % p/p, etc.), en algunas realizaciones, del 0,05 al 15 % p/p y en otras realizaciones, del 0,05 al 10 % p/p. Cuando se formula en una pomada, el principio activo puede emplearse con una base de pomada parafínica o miscible en agua. Como alternativa, el principio activo puede formularse en una crema con una base de crema aceite-en-agua.

Si se desea, la fase acuosa de la base de crema puede incluir, por ejemplo, al menos el 30 % p/p de un alcohol polihídrico, es decir, un alcohol que tiene dos o más grupos hidroxilo tal como propilenglicol, butano 1,3-diol, manitol, sorbitol, glicerol y polietilenglicol (incluyendo PEG400) y mezclas de los mismos. Las formulaciones tópicas pueden incluir deseablemente un compuesto que potencie la absorción o penetración del principio activo a través de la piel u otras áreas afectadas. Los ejemplos de dichos potenciadores de la penetración dérmica incluyen dimetilsulfóxido y análogos relacionados.

La fase oleosa de las emulsiones de la presente invención puede estar constituida por ingredientes conocidos de una manera conocida. Aunque la fase puede comprender meramente un emulsionante (también conocido como emulgente), deseablemente comprende una mezcla de al menos un emulsionante con una grasa o un aceite o tanto con una grasa como con un aceite. En algunas realizaciones, se incluye un emulsionante hidrófilo junto con un emulsionante lipófilo que actúa como estabilizante. En algunas realizaciones, incluye tanto un aceite como una grasa. Juntos, el emulsionante o emulsionantes con o sin estabilizante o estabilizantes constituyen la denominada cera emulsionante, y la cera junto con el aceite y la grasa constituyen la denominada base de pomada emulsionante que forma la fase dispersa oleosa de las formulaciones en crema.

Los emulgentes y estabilizantes de emulsión adecuados para su uso en la formulación de la presente invención incluyen Tween®60, Span®80, alcohol cetoestearílico, alcohol bencílico, alcohol miristílico, monoestearato de glicerilo y laurilsulfato de sodio.

La elección de aceites o grasas para la formulación adecuados se basa en conseguir las propiedades cosméticas deseadas, ya que la solubilidad del compuesto activo en la mayoría de los aceites susceptibles de utilizarse en las formulaciones de emulsión farmacéuticas es muy baja. En algunas realizaciones, la crema debe ser preferentemente un producto no graso, que no manche y que sea lavable con una consistencia adecuada para evitar filtraciones de los tubos u otros recipientes. Pueden utilizarse ésteres de alquilo mono o dibásicos, lineales o de cadena ramificada, tales como diisoadipato, estearato de isocetilo, diéster de propilenglicol de ácidos grasos de coco, miristato de isopropilo, oleato de decilo, palmitato de isopropilo, estearato de butilo, palmitato de 2-etilhexilo o una mezcla de ésteres de cadena ramificada conocida como Crodamol CAP, siendo los tres últimos los ésteres preferidos. Estos pueden usarse solos o en combinación dependiendo de las propiedades requeridas. Como alternativa, pueden utilizarse lípidos de alto punto de fusión tales como parafina filante blanca y/o parafina líquida u otros aceites minerales.

Las formulaciones adecuadas para la administración tópica en el ojo también incluyen colirios en los que el principio activo se disuelve o se suspende en un vehículo adecuado, especialmente un disolvente acuoso para el principio activo. En algunas realizaciones, el principio activo está presente en dichas formulaciones en una concentración del 0,1 al 20 %. En algunas realizaciones, el principio activo está presente en una concentración del 0,1 al 10 %. En algunas realizaciones, el principio activo está presente en una concentración de aproximadamente el 1,5 % p/p.

Las formulaciones adecuadas para la administración tópica en la boca incluyen pastillas para chupar que comprenden el principio activo en una base aromatizada, por lo general sacarosa y goma arábiga o tragacanto; pastillas que comprenden el principio activo en una base inerte tal como gelatina y glicerina, o sacarosa y goma arábiga; y enjuagues bucales que comprenden el principio activo en un vehículo líquido adecuado.

Las formulaciones para la administración rectal pueden presentarse en forma de un supositorio con una base adecuada que comprende, por ejemplo, manteca de cacao o un salicilato.

Las formulaciones adecuadas para la administración nasal en las que el vehículo es un sólido incluyen un polvo grueso que tiene un tamaño de partícula, por ejemplo, en el intervalo de 20 a 500 micrómetros (incluyendo tamaños de partícula en un intervalo entre 20 y 500 micrómetros en incrementos de 5 micrómetros tal como 30 micrómetros, 35 micrómetros, etc.), que se administra de la manera en la que se toma el rape, es decir por inhalación rápida a través del conducto nasal desde un recipiente del polvo sostenido cerca de la nariz. Las formulaciones adecuadas en las que el vehículo es un líquido, para la administración de, por ejemplo, una pulverización nasal o como gotas nasales, incluyen soluciones acuosas u oleosas del principio activo. Las formulaciones adecuadas para la administración en aerosol pueden prepararse de acuerdo con métodos convencionales y pueden administrarse con otros agentes terapéuticos tales como pentamidina para el tratamiento de la neumonía por *Pneumocystis*.

Las formulaciones adecuadas para la administración vaginal pueden presentarse como formulaciones en pesarios, anillos, tampones, cremas, geles, pastas, espumas o pulverizaciones que contienen, además del principio activo, vehículos tales como los que se sabe en la técnica que son apropiados.

Las formulaciones adecuadas para la administración parenteral incluyen soluciones de inyección estériles acuosas y no acuosas que pueden contener antioxidantes, tampones, bacteriostáticos y solutos que convierten la formulación en isotónica con la sangre del receptor previsto; y suspensiones estériles acuosas y no acuosas que pueden incluir agentes de suspensión y agentes espesantes. Las formulaciones pueden presentarse en recipientes de dosis unitarias o múltiples, por ejemplo ampollas y viales sellados, y pueden almacenarse en condiciones de secado por congelación (liofilizado) que requiere solo la adición del vehículo líquido estéril, por ejemplo, agua para inyecciones, inmediatamente antes de su uso. Las soluciones y suspensiones para inyección extemporánea pueden prepararse a partir de polvos, gránulos y comprimidos estériles del tipo descrito anteriormente. Las formulaciones de dosificación unitaria preferidas son las que contienen una dosis diaria o una subdosis diaria unitaria, como se ha indicado anteriormente en el presente documento, o una fracción apropiada de las mismas, de un principio activo.

Ha de entenderse que además de los ingredientes mencionados en particular anteriormente las formulaciones de la presente invención pueden incluir otros agentes convencionales en la técnica teniendo en cuenta el tipo de formulación en cuestión, por ejemplo los adecuados para la administración oral pueden incluir agentes aromatizantes.

La presente invención proporciona adicionalmente composiciones veterinarias que comprenden al menos el principio activo como se ha definido anteriormente junto con un vehículo veterinario. Los vehículos veterinarios son materiales útiles para el propósito de administrar la composición y pueden ser materiales sólidos, líquidos o gaseosos que sean por lo demás inertes o aceptables en la técnica veterinaria y sean compatibles con el principio activo. Estas composiciones veterinarias pueden administrarse por vía oral, parenteral o por cualquier otra vía deseada.

Los compuestos que se describen en el presente documento pueden usarse para proporcionar formulaciones farmacéuticas de liberación controlada que contengan como principio activo el compuesto de la invención ("formulaciones de liberación controlada") en las que la liberación del principio activo puede controlarse y regularse para permitir una dosificación menos frecuente o para mejorar el perfil farmacocinético o de toxicidad del compuesto de la invención. Pueden prepararse, de acuerdo con métodos convencionales, formulaciones de liberación controlada adaptadas para la administración oral en las que las unidades individuales comprenden uno o más compuestos de la invención. Pueden emplearse formulaciones de liberación controlada para el tratamiento o la profilaxis de diversas infecciones microbianas, en particular infecciones bacterianas humanas, protozoarias parasíticas humanas o víricas humanas, provocadas por especies microbianas incluyendo *Plasmodium*, *Pneumocystis*, los virus del herpes (CMV, VHS 1, VHS 2, VZV y similares), retrovirus, adenovirus y similares. Las formulaciones de liberación controlada pueden utilizarse para tratar infecciones por el VIH y afecciones relacionadas tales como la tuberculosis, la malaria, la neumonía por *Pneumocystis*, la retinitis por CMV, el SIDA, el complejo relacionado con el SIDA (CRS) y la linfadenopatía generalizada progresiva (LGP) y afecciones neurológicas relacionadas con el SIDA tales como la esclerosis múltiple y la paraparesia espástica tropical. Otras infecciones retrovíricas humanas que pueden tratarse con las formulaciones de liberación controlada de acuerdo con la invención incluyen el virus linfotrópico de los linfocitos T humano y las infecciones por VIH-2. En consecuencia, la divulgación proporciona formulaciones farmacéuticas para su uso en el tratamiento o la profilaxis de las afecciones y las infecciones microbianas, humanas o veterinarias, mencionadas anteriormente.

Potenciadores farmacocinéticos. Los compuestos que se describen en el presente documento pueden emplearse en combinación con potenciadores farmacocinéticos (a veces también denominados "agentes de refuerzo"). Un aspecto de la divulgación proporciona el uso de una cantidad eficaz de un potenciador para potenciar o "reforzar" la farmacocinética del compuesto de la invención. Una cantidad eficaz de un potenciador, por ejemplo, la cantidad requerida para potenciar el compuesto activo de la invención, es la cantidad necesaria para mejorar el perfil farmacocinético o actividad del compuesto en comparación con su perfil cuando se usa solo. El compuesto posee un perfil farmacocinético eficaz mejor de lo que sería sin la adición del potenciador. La cantidad de potenciador farmacocinético utilizado para potenciar la potencia del compuesto es, preferentemente, subterapéutica (por

ejemplo, dosificaciones por debajo de la cantidad de agente de refuerzo utilizado convencionalmente para tratar terapéuticamente la infección en un paciente). Una dosis de potenciador para los compuestos de la invención es subterapéutica para tratar la infección, pero lo suficientemente alta para efectuar la modulación del metabolismo de los compuestos de la invención, de manera que su exposición en un paciente se refuerza por el aumento de la biodisponibilidad, el aumento de los niveles sanguíneas, el aumento de la semivida, el aumento del tiempo hasta la concentración máxima, la inhibición mayor/más rápida de la integrasa del VIH, el RT o la proteasa y/o la reducción del aclaramiento sistémico. Un ejemplo de un potenciador farmacocinético es el RITONAVIR™ (Abbott Laboratories).

F. Métodos de tratamiento

De acuerdo con un aspecto de la divulgación se proporcionan métodos para el tratamiento de trastornos provocados por infecciones víricas. En algunos aspectos, el virus es un retrovirus. En una realización, el virus es un retrovirus gamma. Como se usa en el presente documento, "retrovirus" es un virus de ARN que se replica en una célula hospedadora por medio de la enzima transcriptasa inversa para producir ADN a partir de su genoma de ARN. El ADN se incorpora después en el genoma del hospedador mediante una enzima integrasa. El virus se replica a partir de entonces como parte del ADN de la célula hospedadora. Los retrovirus son virus envueltos que pertenecen a la familia vírica *Retroviridae.* Los retrovirus de ejemplo incluyen, pero no se limitan a, el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) y el virus xenotrópico relacionado con el virus de la leucemia murina (XMRV). Además, existen pruebas para indicar que el XMRV puede estar relacionado con el síndrome de fatiga crónica (SFC). (Véase, por ejemplo, Lombardi, et al., *Detection of an infectious retrovirus, XMRV, in blood cells of patients with chronic fatigue syndrome, Science*, vol. 326, P 585-589 (octubre de 2009)).

En una realización, el compuesto utilizado para tratar al sujeto es una sal de potasio de CMX157. En otra realización, el compuesto utilizado para tratar al sujeto es la forma libre de CMX157.

En una realización, el sujeto es un ser humano. En una realización, el sujeto es un sujeto inmunodeprimido y/o inmunodeprimido. En algunas realizaciones, los efectos secundarios tóxicos en el sujeto inmunodeficiente disminuyen en comparación con los efectos secundarios tóxicos del uso de tenofovir u otros agentes antivíricos. En una realización, el sujeto padece el síndrome de fatiga crónica. En una realización, el sujeto padece cáncer de próstata.

Los síntomas del síndrome de fatiga crónica (SFC) pueden incluir, por ejemplo, la fatiga que altera la vida en las actividades habituales de la vida diaria, incluyendo conjuntos de síncope, dolor en el pecho, dolores musculares, palpitaciones, dolor de garganta, fiebre de bajo grado, incapacidad para hacer ejercicio sin que un empeoramiento de todos los síntomas se extienda al día siguiente, linfadenopatía cervical, deterioro cognitivo y depresión resultante e intolerancia a alcohol. También puede producirse una activación inmunitaria crónica intensa que los acompaña.

En una realización, los métodos de la presente divulgación alivian uno o más síntomas asociados al síndrome de fatiga crónica.

Como se usa en el presente documento, la inmunodeficiencia (o deficiencia inmunitaria) es un estado en el que la capacidad del sistema inmunitario para combatir enfermedades infecciosas se ve comprometida o está totalmente ausente. Un sujeto inmunodeprimido es un sujeto que tiene una inmunodeficiencia de cualquier tipo o de cualquier nivel. El sujeto inmunocomprometido de ejemplo incluye, pero no se limita a, un sujeto con inmunodeficiencia primaria (un sujeto que nace con defectos en el sistema inmunitario) y un sujeto con inmunodeficiencia secundaria (adquirida). Además, otras causas habituales de inmunodeficiencia secundaria incluyen, pero no se limitan a, la malnutrición, el envejecimiento y medicamentos particulares (por ejemplo la terapia inmunosupresora, tal como la quimioterapia, los fármacos antirreumáticos modificadores de la enfermedad, los fármacos inmunosupresores después del trasplante de órganos, los glucocorticoides). Otras enfermedades de ejemplo que deterioran directa o indirectamente el sistema inmunitario incluyen, pero no se limitan a, diversos tipos de cáncer, (por ejemplo, de médula ósea y de células sanguíneas (leucemia, linfoma, mieloma múltiple)), síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA) provocado por el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH), infecciones crónicas y enfermedades autoinmunes (por ejemplo, la encefalomielitis diseminada aguda (EMDA), la enfermedad de Addison, la alopecia areata, la espondilitis anquilosante, el síndrome de anticuerpos antifosfolípidos (APS), la anemia hemolítica autoinmune, la hepatitis autoinmune, la enfermedad del oído interno autoinmune, el penfigoide ampolloso, la enfermedad celíaca, la enfermedad de Chagas, la enfermedad pulmonar obstructiva crónica, la enfermedad de Crohn, la dermatomiositis, la diabetes mellitus de tipo 1, la endometriosis, el síndrome de Goodpasture, la enfermedad de Graves, el síndrome de Guillain-Barré (SGB), la enfermedad de Hashimoto, la hidradenitis supurativa, la enfermedad de Kawasaki, la nefropatía por IgA, la púrpura trombocitopénica idiopática, la cistitis intersticial, el lupus eritematoso, la enfermedad mixta del tejido conectivo, la esclerodermia, la esclerosis múltiple (EM), la miastenia grave, la narcolepsia, la neuromiotonía, el pénfigo vulgar, la anemia perniciosa, la psoriasis, la artritis psoriásica, la polimiositis, la cirrosis biliar primaria, la artritis reumatoide, la esquizofrenia, la esclerodermia, el síndrome de Sjögren, el síndrome del hombre rígido, la arteritis temporal (también conocida como "arteritis de células gigantes"), la colitis ulcerosa, la vasculitis, el vitíligo, la granulomatosis de Wegener).

La actividad antivírico de CMX157 se ha descrito en las Patentes de los Estados Unidos N.º 6.716.825, 7.034.014, 7.094.772, 7.098.197, 7.452.898 y la publicación PCT N.º WO 2008/133966.

2. Tratamiento de infecciones del compartimento privilegiado

También se ha descubierto que los compuestos que se describen en el presente documento pueden asociarse o unirse a partículas víricas. Dado que las partículas víricas migran o penetran en compartimentos celulares o tisulares que generalmente no son accesible a los agentes terapéuticos activos (creando de este modo un "depósito" de la infección sustancialmente sin tratar cuando a los sujetos se les administran por vía sistémica dichos agentes), este hallazgo hace posible *(a)* el tratamiento de la infección en dichos compartimentos privilegiados y *(b)* el uso de agentes activos en tratamientos profilácticos o microbicidas (en los que la asociación o unión del agente activo al virus antes de que ocurra la infección es terapéuticamente beneficiosa).

En general, un compartimento privilegiado es un compartimento celular o tisular al que dicho virus penetra in vivo, al que dicho agente activo no penetra de manera eficiente in vivo en ausencia de dicho virus y al que dicho agente activo es llevado in vivo por dicho virus cuando dicho agente activo se une a dicho virus. Por ejemplo, cuando el compartimento privilegiado es un compartimento tisular, éste puede ser el cerebro (sistema nervioso central), el tejido linfoide o los testículos. Los ejemplos de compartimentos celulares privilegiados incluyen, pero no se limitan a, las células dendríticas, la microglía, los monocitos/macrófagos y combinaciones los mismos. Pueden prepararse y realizarse composiciones y métodos de tratamiento de infecciones del compartimento privilegiado como se ha descrito anteriormente. Se analizan composiciones, dispositivos y métodos profilácticos en más detalle a continuación.

El tratamiento para las infecciones de compartimentos privilegiados usando CMX157 se ha descrito en las Publicaciones PCT N.º WO 2009/094191 y WO 2009/094190.

F. Composiciones tópicas y métodos microbicidas

La presente invención puede tomar la forma de composiciones tópicas que contienen el agente activo descrito en el presente documento para inhibir o combatir una infección vírica, por ejemplo, para su uso profiláctico. Se conocen y describen dichas composiciones (con agentes activos distintos de los desvelados en el presente documento) en, por ejemplo, la Patente de los EE.UU. N.º 6.545.007.

Dichas composiciones pueden tomar varias formas. Por tanto, en una realización, la composición está en forma de una crema, loción, gel o espuma que se aplica a la piel o cavidad epitelial afectada y, preferentemente, se extiende sobre toda la piel o superficie epitelial que se encuentra en riesgo de contacto con fluidos corporales. Dichas formulaciones, que son adecuadas para su administración vaginal o rectal, pueden estar presentes como suspensiones acuosas u oleosas, soluciones o emulsiones (formulaciones líquidas) que contienen además del principio activo, vehículos tales como los que se sabe en la técnica que son apropiados. Para lubricantes "independientes" (es decir, lubricantes que no están envasados previamente con preservativos), generalmente se prefieren geles y formulaciones acuosas similares, por diversas razones (tanto científicas como económicas) conocidas por los expertos en la materia. Estas formulaciones son útiles para proteger no solo contra la transmisión sexual de un retrovirus, sino también para prevenir la infección de un bebé durante el paso a través del canal del parto. De este modo, la administración vaginal puede tener lugar antes de las relaciones sexuales, durante las relaciones sexuales e inmediatamente antes del parto.

Un método de aplicación de un lubricante antivírico a los genitales, para los fines desvelados en el presente documento, consiste en extraer una pequeña cantidad (tal como una cucharilla o varios mililitros) de un gel, crema, pomada, emulsión o formulación similar desde un tubo, tarro o recipiente similar plástico o metálico o de un paquete sellado plástico, metálico u otro que contenga una dosis única de dicha composición, y extender la composición por la superficie del pene inmediatamente antes del acto sexual. Los métodos alternativos de aplicación incluyen: (1) extender la composición sobre superficies accesibles dentro de la vagina o recto poco antes del acto sexual; y (2) poner un preservativo, diafragma o dispositivo similar, que ya se haya recubierto o puesto en contacto de otro modo con un lubricante antivírico, sobre el pene o dentro de la vagina. En una realización preferida, cualquiera de estos métodos de extensión de un lubricante antivírico por las superficies de los genitales provoca que el lubricante recubra y permanezca en contacto con las superficies genitales y epiteliales a lo largo del acto sexual.

En una realización, las composiciones se usan en conjunto con los preservativos, para potenciar la eficacia de reducción del riesgo de los preservativos y proporcionar la máxima protección para los usuarios. La composición o bien puede aplicarse como recubrimiento sobre los preservativos durante la fabricación y pueden incluirse dentro de paquetes de plástico o de papel de aluminio herméticos convencionales que contengan un preservativo por paquete, o puede aplicarse manualmente por un usuario en el interior o el exterior de un preservativo, inmediatamente antes de su uso.

Como se usa en el presente documento, "preservativo" se refiere a un dispositivo de barrera que se utiliza para proporcionar una barrera física hermética entre los órganos genitales masculinos y femeninos durante el acto sexual

y que se retira después del acto sexual. Este término incluye los preservativos convencionales que cubren el pene; también incluye los denominados "preservativos femeninos" que se insertan en la cavidad vaginal antes del acto sexual. El término "preservativo" no incluye los diafragmas, capuchones cervicales u otros dispositivos de barrera que cubran solamente una parte de las membranas epiteliales dentro de la cavidad vaginal. Preferentemente, los preservativos deben estar hechos de látex o un material plástico sintético tal como poliuretano, ya que éstos proporcionan un alto grado de protección contra los virus.

En otra realización la composición está en forma de una píldora intravaginal, una píldora intrarrectal o un supositorio. El supositorio o píldora debe insertarse en la cavidad vaginal o rectal de una manera que permita que el supositorio o píldora, mientras se disuelve o erosiona, recubra las paredes vaginales o rectales con una capa profiláctica del antivírico.

En otra realización más, la composición se aplica tópicamente mediante la liberación desde un dispositivo intravaginal. Pueden adaptarse fácilmente dispositivos tales como anillos vaginales, esponjas vaginales, diafragmas, capuchones cervicales, preservativos femeninos y similares para liberar la composición en la cavidad vaginal después de la inserción.

Las composiciones utilizadas en los métodos de la presente divulgación también pueden comprender agentes activos adicionales, tales como otro u otros agentes para prevenir la infección por retrovirus y agentes que protejan a los individuos de la concepción y de otras enfermedades de transmisión sexual. Por tanto, en otra realización, las composiciones comprenden adicionalmente uno o más agentes antivíricos adicionales, viricidas eficaces contra las infecciones víricas y/o espermicidas.

En una realización particular, la composición contiene nonoxinol, un tensioactivo espermicida ampliamente utilizado. La composición resultante puede considerarse como una composición "bifuncional", ya que tendría dos agentes activos que proporcionan dos funciones deseadas distintas, en un vehículo líquido relativamente inerte; el nonoxinol proporcionaría un agente anticonceptivo espermicida y un derivado de dihidroalcoxibenciloxopirimidina (DABO) proporcionaría propiedades antivíricas. Es probable que el nonoxinol provoque algún nivel de irritación, en al menos algunos usuarios; este es un efecto secundario lamentable pero bien conocido de los tensioactivos espermicidas tales como el nonoxinol y el octoxinol, que atacan y destruyen las membranas de bicapa lipídica que rodean las células del esperma y otras células de mamíferos.

Las composiciones también pueden contener un lubricante que facilite la aplicación de la composición a las áreas deseadas de la piel y el tejido epitelial y reduzca la fricción durante el acto sexual. En el caso de una píldora o supositorio, el lubricante puede aplicarse al exterior de la forma de dosificación para facilitar la inserción.

En otra realización más, la divulgación proporciona un dispositivo para la inhibición de la transmisión sexual de un retrovirus que comprende (a) una estructura de barrera para la inserción en la cavidad vaginal y (b) una composición que comprende un agente activo como se describe en el presente documento. Como se ha mencionado anteriormente, los dispositivos preferidos que actúan como estructuras de barrera y que pueden adaptarse para aplicar el agente antivírico, incluyen la esponja vaginal, el diafragma, el capuchón cervical o el preservativo (masculino o femenino).

Los métodos, composiciones y dispositivos pueden adaptarse en general para liberar el agente activo de una manera sensible al tiempo que mejor se corresponda con la sincronización de la actividad sexual. Cuando se aplican tópicamente en forma de una loción o un gel, las composiciones se aplican preferentemente inmediatamente antes de la actividad sexual. Otros modos de aplicación, tales como dispositivos y supositorios, pueden diseñarse para liberar el agente activo durante un período prolongado de tiempo, a una velocidad predeterminada, dependiendo de las necesidades del consumidor.

Las composiciones tópicas y métodos microbicidas que usan CMX157 también se han descrito en las Publicaciones PCT N.º WO 2009/094191 y WO 2009/094190.

G. Ejemplos

La presente invención se describirá ahora en más detalle con referencia a los siguientes ejemplos. Ha de entenderse que los ejemplos que no están cubiertos por las reivindicaciones son ejemplos de referencia. El ejemplo de la invención se proporciona con fines de ilustración y no debe interpretarse como limitante del alcance de la invención.

EJEMPLO 1. SELECCIÓN Y PREPARACIÓN DE SALES

1. Selección preliminar de sales

Se realizó una selección preliminar de sales sobre CMX157. Se seleccionaron formadores de cocristales en forma conjunta entre la siguiente lista: ácido cítrico, ácido fumárico, ácido gentísico, ácido hipúrico, ácido maleico, ácido L-mandélico, ácido orótico, ácido oxálico, sacarina, ácido succínico, ácido L-tartárico, ácido toluenosulfónico,

amoníaco, L-arginina, hidróxido de calcio, dietilamina, dietilaminoetanol, etilendiamina, 1H imidazol, L-lisina, 2-hidroxietilmorfolina, N-metil-glucamina, metanolato de potasio, terc-butóxido de cinc. La selección de sal/cocristal incluyó la evaporación en cuatro disolventes seguida del equilibrio de fases en cuatro disolventes adicionales. Los residuos sólidos se investigaron por microscopía Raman después de cada experimento.

La comparación de los espectros Raman indicó una formación de sal/cocristal en el caso de la muestra de gentisato (cristalino). Se descubrió que las muestras de fumarato y hipurato eran mezclas de material cristalino y amorfo. Los espectros de Raman detectados de estas muestras indicaron una formación de sal. Los espectros Raman de las siguientes muestras amorfas revelaron diferencias con el espectro del fármaco libre y el del correspondiente formador de sal: muestra de calcio, muestra de dietil amina, muestra de dietilaminoetanol, muestra de etilendiamina, muestra de imidazol, muestra de potasio. Los espectros de Raman de las muestras de L-mandelato y de succinato revelaron solo ligeras diferencias en comparación con los espectros del fármaco libre y el del correspondiente formador de sal. La investigación de la placa después del almacenamiento de la placa a temperatura ambiente durante doce días dio como resultado un material parcialmente cristalino en el caso de N-metilglucamina, etilendiamina e imidazol. Los espectros de Raman registrados de estas muestras indicaron una posible formación de sal.

De acuerdo con los resultados de la selección preliminar, se realizó una optimización de cristalización adicional para las siguientes sales: muestra de gentisato, muestra de fumarato, muestra de hipurato, muestra de etilendiamina, muestra de imidazol, muestra de N-metilglucamina, muestra de potasio y muestra de succinato.

2. Preparación de las sales

La forma de ácido libre de CMX157 puede prepararse mediante métodos conocidos para un experto en la materia (Véase, por ejemplo, Painter et al., *Antimicrob Agents Chemother* 51:3505-9 (2007) y Painter, et al., *Trends Biotechnol* 22:423-7 (2004)).

Sal de sodio de CMX157: se disolvieron (55,0 gramos, 96,5 mmol) de forma de ácido libre de CMX157 en una solución de DCM:MeOH (9:1, 550 ml) a temperatura ambiente. Se añadió metóxido de sodio (solución 0,5 M en metanol, 193,1 ml, 96,5 mmol) a la solución y se agitaron a temperatura ambiente durante 30 minutos. La mezcla de reacción se concentró al vacío hasta sequedad (baño de agua 50 ºC). La espuma de color blanquecino resultante se disolvió en etanol (200 ml) a 60 ºC, se diluyó con acetona (200 ml), se enfrió a temperatura ambiente y se envejeció durante 18 horas. La suspensión se mantuvo a 5 ºC durante 48 horas, se filtró, se lavó con acetona (200 ml) y se secó al vacío a 35 ºC durante 48 horas para producir 54,4 g (95,2 %) de la sal de sodio de CMX157 en forma de un sólido de color blanco. HPLC (ABC) pureza del 99,6 %.

Sal de potasio de CMX157: Se disolvieron (55,0 gramos, 96,5 mmol) de forma de ácido libre de CMX157 en una solución de DCM:MeOH (9:1, 550 ml) a temperatura ambiente. Se añadió metóxido de potasio (solución al 25 % en metanol, 28,5 ml, 96,5 mmol) a la solución y se agitaron a temperatura ambiente durante 30 minutos. La mezcla de reacción se concentró al vacío hasta sequedad (baño de agua a 50 ºC). La espuma de color blanquecino resultante se disolvió en etanol (200 ml) a 60 ºC, se diluyó con acetona (200 ml), se enfrió a temperatura ambiente y se envejeció durante 18 horas. La suspensión se mantuvo a 5 ºC durante 48 horas, se filtró, se lavó con acetona (200 ml) y se secó al vacío a 35 ºC durante 48 horas para producir 48,4 g (82,4 %) de la sal de potasio de CMX157 en forma de un sólido de color blanco. HPLC (ABC) pureza del 97,4 %.

Sal de litio de CMX157: Se disolvieron (55,0 gramos, 96,5 mmol) de forma de ácido libre de CMX157 en una solución de DCM:MeOH (9:1, 550 ml) a temperatura ambiente. Se añadió *terc*-butóxido de litio (7,73 g, 96,5 mmol) a la solución y se agitaron a temperatura ambiente durante 30 minutos. La mezcla de reacción se concentró al vacío hasta sequedad (baño de agua a 50 ºC). El sólido de color blanquecino resultante se disolvió en etanol (800 ml) a 70 ºC, se enfrió a temperatura ambiente y se envejeció durante 16 horas. La suspensión fina se filtró, se lavó con acetona (200 ml) y se secó al vacío a 35 ºC durante 48 horas para producir 51,2 g (92,1 %) de sal de litio de CMX157en forma de un sólido de color blanco. HPLC (ABC) pureza del 95,7 %.

Sal de Amonio de CMX157: Se disolvieron (55,0 gramos, 96,5 mmol) de forma de ácido libre de CMX157 en 2-propanol (220 ml) a 78 ºC en presencia de hidróxido de amonio (solución al 28-30 % 13,54 ml, 96,5 mmol). La mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente y se envejeció durante 18 horas. La suspensión se mantuvo a 5 ºC durante 48 horas, se filtró y se secó al aire durante aproximadamente 48 horas para producir 51,7 g (91,3 %) de sal de amonio de CMX157 en forma de un sólido de color blanco. HPLC (ABC) pureza del 98,7 %.

EJEMPLO 2 PROPIEDADES DE LAS SALES

1. Estabilidad de CMX157 y sales de CMX157

Se realizó un ensayo de estabilidad para CMX157 y sus sales para investigar la calidad del compuesto con el tiempo en diversos ambientes. Se establecieron condiciones aceleradas utilizando un horno de vacío Isotemp ajustado a ya sea 40 ºC o 60 ºC. Si se necesitaba una alta humedad, una solución saturada de cloruro de sodio creaba un estado

del aire que contenía aproximadamente el 75 % de humedad.

Para la determinación de la cantidad de CMX157 presente en las muestras dentro del estudio de estabilidad, se utilizó un patrón de referencia de una pureza conocida. Se ha demostrado que El patrón de referencia es estable a temperatura ambiente y condiciones aceleradas. Para el análisis, se disolvieron 40 mg de muestras y patrones en 100,0 ml de diluyente (80 H_2O: 20 Metanol: 2 NH_4OH). La separación del fármaco y las impurezas se consiguó utilizando un gradiente de fase móvil (Tabla 1) en un HPLC Shimadzu A20 con una columna Phenomenex Synergi Polar RP 4 µ 150 x 3 mm. Mediante la comparación de las áreas de las muestras a una longitud de onda de 259 nM (λ máx) con las del patrón de referencia, se determinó el porcentaje de CMX157.

Tabla 1. El gradiente de fase móvil para HPLC

Tiempo	% de acetato de amonio 50 mM con EDTA 50 µM	% de metanol	Caudal (ml/min)
0,00	35	65	0,8
12,00	20	80	0,8
18,00	5	95	0,8
18,01	35	65	0,8
22,00	final	final	0,8

La estabilidad para CMX157 y diversas sales de CMX157 en diferentes condiciones se resume en la Tabla 2. Como se muestra en la Tabla 2, aproximadamente el 30 % del ácido libre se descompone después de que se pusiera a 60 ºC durante 4 semanas (28 días). Por el contrario, las sales de sodio, potasio, litio y amonio de CMX157 han mantenido la estabilidad en condiciones de temperatura ambiente o a 40 ºC después de 2 semanas o 4 semanas.

Tabla 2. Estabilidad para diversas sales para CMX157

Tipo de CMX157				
ácido libre		inicial:	94,5 %	
			40/75	60 ºC
		9 días	91,5 %	81,4 %
		4 semanas	93,9 %	70,2 %
Na +		inicial:	99,6 %	
			TA	40/75
		2 semanas	95,5 %	96,9 %
		4 semanas	99,5 %	99,9 %
K +		inicial	97,4 %	
			TA	40/75
		2 semanas	98,3 %	98,2 %
		4 semanas	99,6 %	99,4 %
Li +		inicial:	95,7 %	
			TA	40/75
		2 semanas	97,1 %	97,3 %
		4 semanas	97,5 %	99,0 %
NH4 +		inicial:	98,7 %	
			TA	40/75
		2 semanas	98,9 %	98,5 %
		4 semanas	100,3 %	101,6 %
Referencia: LJK017 páginas 136, 139, 148, 152, 157, 160				

2. Higroscopicidad para las sales

De acuerdo con la observación de los investigadores de la presente invención, la sal de potasio para CMX157 es menos higroscópica que otras sales.

3. Elaborabilidad para las sales

De acuerdo con la observación de los investigadores de la presente invención, la sal de potasio para CMX157 es menos pegajosa en comparación con otras sales durante el proceso de filtración.

EJEMPLO 3 EVALUACIÓN ANTI-XMRV DE CMX157

El siguiente ejemplo demuestra los resultados de las evaluaciones *in vitro* anti-retrovirus xenotrópico murino (XMRV) de CMX157 en paralelo con tenofovir y otros agentes antivíricos. Los materiales de ensayo se evaluaron en células PG-4 contra XMRV recogidos del sobrenadante sin células de células de cáncer de próstata 22Rv1 utilizando una curva de dosis respuesta completa. Los detalles experimentales y los resultados se analizan a continuación.

1. Compuestos

Se solubilizaron los materiales de ensayo (sal de K^+ de CMX157 y Tenofovir) a 40 mM y 10 mM en agua, respectivamente, y se almacenaron a -20 ºC. Los materiales de ensayo se evaluaron usando una concentración de ensayo alta de 1 µM y se diluyeron en serie en incrementos semilogarítmicos para el ensayo antivírico *in vitro* (SOW104-11-01). Se realizó un segundo ensayo (SOW104-11-02) utilizando una concentración de ensayo alta de 1 µM para CMX157, pero concentración de ensayo aumentada de 100 µM para tenofovir. Se adquirió ribavirina de Sigma y se utilizó como compuesto de control positivo. Se obtuvieron AZT e indinavir del NIH AIDS Repository y se utilizaron como compuestos de control adicionales.

2. Ensayo de citoprotección de Anti-XMRV

(1) Preparación de células

Se hicieron pases de células de PG (ATCC n.º CRL-2032; astrocitos felinos) en matraces T-75 en medio 5A de McCoy suplementado con suero fetal bovino inactivado por calor al 10 %, L-glutamina 2 mmol/l, penicilina 100 U/ml y estreptomicina 100 µg/ml antes de su uso en el ensayo antivírico. El día anterior al ensayo, las células se dividieron 1:2 para asegurar que estaban en una fase de crecimiento exponencial en el momento de la infección. Se realizó la cuantificación de células totales y de viabilidad utilizando un hemocitómetro y colorante de exclusión azul de tripano. La viabilidad celular tenía que ser superior al 95 % para las células para se fueran a utilizar en el ensayo. Las células se resuspendieron a 5 x 10^4 células por ml (SOW104-11-01) o 1 x 10^5 células por ml (SOW104-11-02) en medio de cultivo tisular y se añadieron a placas de microtitulación de fondo plano en un volumen de 100 µl para la incubación durante la noche a 37 ºC/CO_2 al 5 %.

(2) Dilución de compuesto

Se realizaron diluciones semilogarítmicas en serie. Se retiró el medio de la monocapa de células y se transfirieron 100 µl de concentraciones 2X de medios que contenían compuesto (DMEM suplementado con FBS al 2 %, L-glutamina 2 mmol/l, penicilina 100 U/ml y estreptomicina 100 µg/ml para SOW104-11-01 o medio de cultivo de células PG-4 para SOW104-11-02) a la placa de microtitulación de 96 pocillos. Se evaluaron ribavirina y AZT en paralelo como compuestos de control para SOW104-11-01. Se evaluaron Indinavir y AZT en paralelo como compuestos de control para SOW104-11-02.

(3) Preparación del Virus

El virus XMRV se recogió del sobrenadante libre de células de células de cáncer de próstata humano 22Rv1 (ATCC n.º CRL-2505). Una alícuota titulada previamente de virus se retiró del congelador (-80 ºC) y se dejó descongelar en una cabina de seguridad biológica. El virus se diluyó en medio de ensayo FBS al 2 %, de manera que la cantidad de virus añadida a cada pocillo en un volumen de 100 µl fuera la cantidad que se determinó que produce del 85 al 95 % de muerte celular seis días después de la infección (sobre la base de valores de densidad óptica) para SOW104-11-01. Se utilizó medio de cultivo de células PG-4 para diluir el virus en un volumen de 100 µl en la cantidad que se determinó que produce del 85 al 95 % de muerte celular seis días después de la infección para SOW104-11-02.

(4) Tinción con XTT de placas de microtitulación

Se cuantificó la inhibición de los efectos citopáticos (CPE, por sus siglas en inglés) inducidos por virus midiendo la reducción del colorante de tetrazolio XTT (hidróxido de 2,3-bis(2-metoxi-4-nitro-5-sulfofenil)-5-[(fenilamino)carbonil]-2H-tetrazolio). El XTT en células metabólicamente activas es metabolizado por la enzima NADPH oxidasa mitocondrial a un producto de formazán soluble. Se preparó solución de XTT a diario como una solución madre de 1 mg/ml en PBS. Se preparó una solución de metosulfato de fenazina (PMS) a 0,15 mg/ml en PBS y se almacenó en la oscuridad a -20 ºC. Se preparó XTT/PMS inmediatamente antes de su uso mediante la adición de 40 µl de PMS por ml de solución de XTT. Se añadieron 50 µl de XTT/PMS a cada pocillo de la placa y la placa se incubó durante 4 h a 37 ºC. Se ha determinado empíricamente que las 4 h de incubación están dentro del intervalo de respuesta lineal para la reducción del colorante XTT con los números indicados de células para cada ensayo. Se utilizaron selladores adhesivos de placas en lugar de las tapas, la placa sellada se invirtió varias veces para mezclar el producto de formazán soluble y la placa se leyó a 450 nm (longitud de onda de referencia 650 nm) con un espectrofotómetro de formato de placa de 96 pocillos SpectraMax Plus 384 de Molecular Devices.

(5) Análisis de los datos

Se recogieron datos en bruto del software Softmax Pro 4.6 y se importaron en una hoja de cálculo XLfit4 de Microsoft Excel para analizar (análisis de ajuste de curva de cuatro parámetros) y representar gráficamente los datos. Utilizando Microsoft Excel, se proporcionaron CE_{50} y CE_{90} (el 50 % y el 90 % de inhibición de la replicación del virus), TC_{50} y CT_{90} (el 50 % y el 90 % de reducción de la viabilidad celular) y un índice terapéutico (IT, CT_{50}/CE_{50} y CT_{90}/CE_{90}). La CE_{50}, CE_{90}, CT_{50} y CT_{90} se expresan como medias ± desviación típica. La cifra significativa es de tres dígitos. Los datos en bruto tanto para la actividad antivírica como para la toxicidad con una representación gráfica de los datos se proporcionan en una copia impresa que resume la actividad del compuesto individual.

3. Resultados

(1) Evaluaciones Anti-XMRV

Se evaluaron la sal de K^+ de CMX157 y el tenofovir contra XMRV recogido de células de cáncer de próstata 22Rv1 en células PG-4 usando una curva de respuesta a la dosis de seis concentraciones. Los resultados de los ensayos de XMRV se resumen en la Tabla 3.

El compuesto de control AZT se evaluó en paralelo con los materiales de ensayo presentados y produjo valores de CE_{50} de 0,8 y 0,07 µM. El aumento de la potencia observada en SOW 104-11-02 indica el aumento de la densidad celular y el uso de medio de cultivo de células PG-4 proporcionó condiciones de ensayo superiores en comparación con las utilizadas en SOW 104-11-01. También se evaluaron ribavirina y indinavir en paralelo con los materiales de ensayo presentados y proporcionaron valores de CE_{50} de 10,1 µg/ml y 0,8 µM, respectivamente, con índices terapéuticos calculados de 6,5 y 2,7, respectivamente.

El tenofovir fue inactivo hasta 1 µM cuando se evaluó en SOW 104-11-01 y la sal de K^+ de CMX157 produjo valores de CE_{50} de 0,04 µM. Se realizó un segundo ensayo utilizando una concentración de ensayo alta aumentada para el tenofovir que dio como resultado un valor de CE_{50} de 2,4 µM y 0,003 µM para CMX157.

Tabla 3: Actividad de compuestos en el Ensayo de citoprotección Anti-XMRV

Compuesto	CE_{50} de PG-4/XMRV (µM)	CT_{50} de PG-4 (µM)	Índice terapéutico
Ribavirina (µg/ml)	10,1	65,2	6,5
IDV (Indinavir)	0,8	2,2	2,7
AZT (Retrovir)	0,8	>1,0	>1,2
	0,07	>10,0	>143,0
	0,6	>1,0	>15,6
TFV (Tenofovir)	>1,0	>1,0	---
	2,4	>100,0	>41,5
	2,6	>100,0	>38,6
CMX157	0,04	0,4	10,0
	0,003	>0,1	>333,0
	0,06	5,9	97,8

Como se ha mostrado anteriormente en la Tabla 3, la sal de K^+ de CMX157 demostró aproximadamente una actividad antivírica aproximadamente 60 a 800 veces mayor que la del tenofovir en células PG-4 contra XMRV recogidas de células de cáncer de próstata 22Rv1.

El CMX157 fue un inhibidor potente de XMRV in vitro con una CE_{50} aproximadamente 20 veces menor que la del AZT y 800 veces menor que la del TFV. Se obtuvieron valores mayores de CE_{50} para todos los compuestos cuando se usaron células PG-4 de más pases.

EJEMPLO 4 ACTIVIDAD ANTI-XMRV EN LAS CÉLULAS

La Tabla 4 muestra los datos de un ensayo de actividad anti-XMRV. Específicamente, el ensayo de actividad anti-XMRV se completó en células LNCaP (ensayo de 6 días) de acuerdo con los métodos descritos en *PLoS ONE*, volumen 5 (4), abril de 2010, e9948, páginas 1-7.

Tabla 4. Actividad anti-XMRV

Actividad anti-XMRV en células LNCaP (ensayo de 6 días)			Citotoxicidad (CI_{50}, µM)
Compuesto	CE_{50}, µM	CE_{90}, µM	Células LNCaP
AZT	0,0081 ± 0,011	0,055 ± 0,051	>100
CMX157	0,0031 ± 0,0021	0,037 ± 0,016	>100

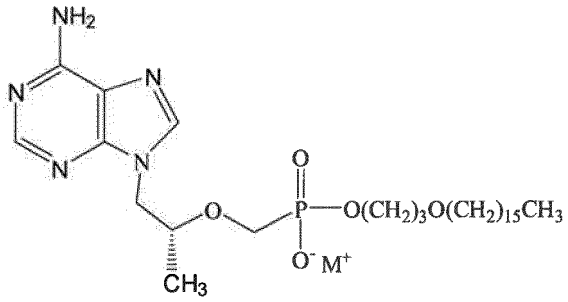
Actividad anti-XMRV en células LNCaP (ensayo de 6 días)			Citotoxicidad (CI_{50}, µM)
Compuesto	CE_{50}, µM	CE_{90}, µM	Células LNCaP
Disoproxil fumarato de tenofovir	0,029 ± 0,026	0,21 ± 0,15	87,4
Tenofovir	4,5 ± 3,8	17,4 ± 9,0	>100
Raltegravir	0,00054 ± 0,00057	0,0032 ± 0,0029>	>100

Estos datos muestran valores de CE_{50} y CE_{90} para CMX157 son comparables o superiores a los de otros compuestos activos, tales como AZT, disoproxil fumarato de tenofovir, tenofovir y raltegravir. La citotoxicidad de CMX157 en las células LNCaP también se sometió a ensayo.

Lo anterior es ilustrativo de la presente invención y no ha de interpretarse como limitante de la misma. La invención se define por las siguientes reivindicaciones.

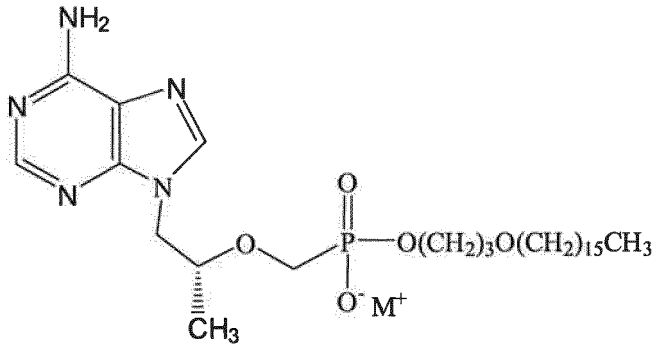
REIVINDICACIONES

1. Un compuesto que tiene la estructura:



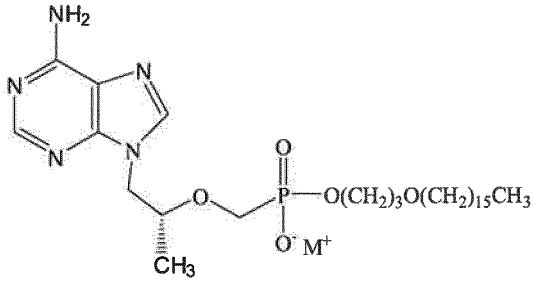
en la que M^+ es K^+.

2. Una composición farmacéutica que comprende un compuesto que tiene la estructura:



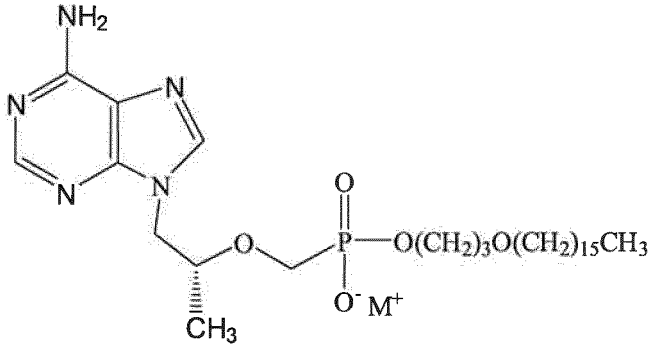
en la que M^+ es K^+.

3. Un compuesto para su uso en el tratamiento de una enfermedad vírica, en el que el compuesto tiene la estructura:



en la que M^+ es K^+.

4. Una composición farmacéutica para su uso en el tratamiento de una enfermedad vírica que comprende un compuesto que tiene la estructura:



en la que M^+ es K^+.

5. El compuesto o composición farmacéutica o compuesto o composición farmacéutica para el uso de una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en los que el compuesto es anhidro o está en forma de solvato.

6. El compuesto o composición farmacéutica o compuesto o composición farmacéutica para el uso de una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en los que el compuesto está en forma cristalina.

7. El compuesto o composición farmacéutica o compuesto o composición farmacéutica para el uso de una cualquiera de las reivindicaciones 1-4, en los que el compuesto tiene una pureza del 98,2 % después de haber sido mantenido a 40 ºC y una humedad del 75 % durante 2 semanas.

8. El compuesto o composición farmacéutica o compuesto o composición farmacéutica para el uso de una cualquiera de las reivindicaciones 1-4, en los que el compuesto tiene una pureza del 99,4 % después de haber sido mantenido a 40 ºC y una humedad del 75 % durante 4 semanas.

9. La composición farmacéutica de la reivindicación 2 o la composición farmacéutica para el uso de la reivindicación 4 en forma de un comprimido administrado por vía oral.